



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA

**Efecto sinérgico del aceite esencial de *Eryngium foetidum* con nitrofurantoína como antibacteriano sobre *Escherichia coli* ATCC11229, estudio in vitro.**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
Médico Cirujano

**AUTORA:**

León Contreras, Irene Estefany (ORCID: 0000-0002-7661-8312)

**ASESORES:**

Dra. Goicochea Ríos, Evelyn Del Socorro (ORCID: 0000-0001-9994-9184)

Dr. Polo Gamboa, Jaime Abelardo (ORCID: 0000-0002-3768-8051)

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:**

Enfermedades Infecciosas y Transmisibles

TRUJILLO – PERÚ

2020

## DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado ante todo a Dios, por brindarme todo cuanto tengo y mantenerme de pie y seguir adelante para cumplir mis metas, a la Virgencita de la Puerta, por cuidarme siempre. A mi madre en el cielo, la cual con el ejemplo y amor que me brindo en vida, me sirvió para formar mi carácter ser mi guía para mi vida y me motiva a seguir adelante. A Alvaro, mi compañero vida, por todo su apoyo y amor, que han permitido que pueda estar cerca de cumplir esta meta. A todas las personas que de una u otra manera me pudieron apoyar durante todos estos años, a todos muchas gracias.

## **AGRADECIMIENTO**

A todos los docentes de la carrera, ya que con sus enseñanzas contribuyeron a mi formación como profesional.

A la Dra. Evelyn Goicochea, por toda su paciencia conmigo, por su preocupación y gran orientación para la realización y culminación de este trabajo de investigación

A la Dr. Jaime Polo, por sus consejos y grandes orientaciones en la parte técnica de la realización de esta tesis.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Índice de contenidos .....	iv
Índice de tablas.....	v
Índice de gráficos y figuras .....	vi
Resumen.....	vii
Abstract.....	viii
 I. INTRODUCCIÓN.....	 1
II. MARCO TEÓRICO.....	4
III. METODOLOGÍA. ....	10
IV. RESULTADOS .....	14
V. DISCUSIÓN .....	19
VI. CONCLUSIONES .....	23
VII. RECOMENDACIONES .....	24
REFERENCIAS .....	25
ANEXOS .....	32

## ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

TABLA 01: Efecto sinérgico antibacteriano del aceite esencial de *Eryngium Foetidum* al 100% con nitrofurantoína 300 µg .....14

TABLA 02: ANOVA del efecto antibacteriano.....16

TABLA 03: Prueba HSD Tukey del efecto sinérgico antibacteriano.....17

TABLA 04. Comparación del efecto sinérgico antibacteriano del aceite esencial de *Eryngium Foetidum* con nitrofurantoína comparado con nitrofurantoína sola.....18

## ÍNDICE DE GRÁFICOS Y FIGURAS

Pág

GRÁFICO 01: Comparación del efecto antibacteriano.....	15
--------------------------------------------------------	----

## RESUMEN

La investigación busco determinar el efecto sinérgico antibacteriano del aceite esencial de *Eryngium foetidum* con nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 11229, in vitro. Su diseño fue experimental y de tipo aplicada. La población estuvo constituida por las siembras de *Escherichia coli* y en los criterios de inclusión se consideró todas las siembras tratadas con el aceite de *E. foetidum* y nitrofurantoína cultivadas por 24 horas y se excluyeron todas las siembras contaminadas. La muestra fue de 10 repeticiones por cada grupo. El efecto sinérgico antibacteriano se evaluó utilizando los discos de sensibilidad antimicrobiana sobre el agar. Cada disco fue colocado de manera equidistante en cada placa y estas fueron colocadas de manera invertida en el horno e incubadas a 35 - 37°C por 24 horas, luego de lo cual se midió y registro los resultados. Sobre el efecto sinérgico del aceite esencial con nitrofurantoína se obtuvo un halo promedio de 31,10 mm, en el aceite solo 14,80 mm y nitrofurantoina sola 25,70mm. Se obtuvo un ANOVA de  $p=0,000$ , demostrando que los resultados presentan un nivel alto de significancia concluyéndose que si existe efecto sinérgico antibacteriano entre nitrofurantoína y el aceite esencial de *Eryngium foetidum*.

**Palabras claves:** Sinergia antibacteriana, *Eryngium foetidum*, *Escherichia coli*, nitrofurantoína. In Vitro.

## ABSTRACT

The research sought to determine the antibacterial synergistic effect of *Eryngium foetidum* essential oil with nitrofurantoin on *Escherichia coli* ATCC 11229, in vitro. Its design was experimental and applied type. The population consisted of *Escherichia coli* seeds and the inclusion criteria considered all the seeds treated with *E. foetidum* oil and nitrofurantoin grown for 24 hours and all contaminated seeds were excluded. The sample was 10 repetitions for each group. The antibacterial synergistic effect was evaluated using the antimicrobial sensitivity discs on the agar.

Each disc was placed equidistant on each plate and these were placed inverted in the oven and incubated at 35-37 °C for 24 hours, after which the results were measured and recorded. Regarding the synergistic effect of essential oil with nitrofurantoin, an average halo of 31.10 mm was obtained, in the oil only 14.80 mm and nitrofurantoin alone 25.70 mm. An ANOVA of  $p = 0.000$  was obtained, showing that the results present a high level of significance, concluding that there is a synergistic antibacterial effect between nitrofurantoin and the essential oil of *Eryngium foetidum*.

**Keywords:** Antibacterial synergy, *Eryngium foetidum*, *Escherichia coli*, nitrofurantoin. In Vitro.



## I. INTRODUCCIÓN

La infección del tracto urinario (ITU) es una enfermedad altamente prevalente a nivel mundial.<sup>1</sup> Tomando como referencia a España, alrededor de cuatro millones de mujeres en edad fértil desarrollan al año un cuadro de cistitis aguda, y un millón de las mismas aproximadamente presentarán recurrencias. En varones, a partir de los quince años, las ITU se reportan como casos extremadamente aislados; mientras que en las mujeres tienen una prevalencia de alrededor del 3% en el total de la población.<sup>2</sup>

En Sudamérica, específicamente en Colombia, estas infecciones se presentan en mujeres en aproximadamente un 40% y un 12% en varones, los cuales presentarán en algunos casos un caso de ITU en su adultez; generando una mayor carga en la salud de la población. El agente patógeno causal con mayor prevalencia es *Escherichia coli*, el cual está asociado en cerca del 95% de las ITU de inicio en la comunidad.<sup>2</sup>

*Escherichia coli*, bacilo Gram negativo anaerobio facultativo, entero patógeno muy prevalente. Se reporta que es causante del 75-90% de las infecciones de vías urinarias,<sup>3</sup> y en aproximadamente el 20% de urocultivos positivos se logró aislar esta bacteria.<sup>4</sup> Forma parte de los microorganismos que colonizadores del aparato digestivo del ser humano.<sup>4</sup> En los casos que este patógeno cause una ITU, la primera línea de tratamiento para su erradicación contempla a fármacos como el cotrimoxazol, ampicilina y nitrofurantoína. La nitrofurantoína es eficaz contra *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella*, *Shigella*, entre otros; y en ITU se utiliza en una dosis de 100 mg cuatro veces por día, la cual es considerada una excelente opción para el tratamiento en mujeres.<sup>4</sup>

Hoy en día existe un abuso e inadecuado uso de los regímenes antimicrobianos, motivo por el cual se refleja un aumento de la resistencia de los mismos llevando a su ineffectividad para combatir la infección por la cual se prescribió,<sup>6</sup> y a la población a la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento, trayendo consigo el incremento del uso de la medicina alternativa.<sup>7</sup> Según la OMS en las últimas décadas,

en todo el mundo, se ha incrementado el uso de medicamentos herbarios para el tratamiento de enfermedades.<sup>8</sup> En el año 2004, en Ginebra, la OMS dio lineamientos sobre cómo realizar un uso adecuado de la medicina tradicional; la cual es usada en un 80 % de la población.<sup>9</sup>

Datos del Instituto Nacional de Salud del Perú señalan que aproximadamente podemos encontrar 20,000 especies vegetales en nuestro país, de las cuales la mayor parte de ellas están presentes en nuestra Amazonía. Muchos de estos vegetales no solo son utilizados como alimento, sino también en el ámbito medicinal e incluso son usadas en rituales por las personas conocedoras de las mismas.<sup>10</sup>

Una planta no muy conocida en la Costa, pero muy usada en la Selva, es el *Sacha* o *Siuca Culantro*, cuyo nombre científico es *Eryngium foetidum* L., el cual se utiliza en medicina tradicional para el tratamiento del dolor de estómago, fiebre, espasmos, gripe, vómito e insomnio.<sup>11</sup>

En un estudio realizado en India, se encontró efecto antibacteriano de esta planta contra diferentes bacterias dentro de las cuales se encontraba *Escherichia coli*, el cual fue medido por el halo inhibitorio, obteniendo una medida de 15 mm, concluyendo que dicha planta posee efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli*, el cual es uno de los patógenos más relevantes como agente causal de ITU.<sup>12</sup>

Frente a esta realidad, se planteó el siguiente problema: **¿El aceite esencial de *Eryngium foetidum* tiene efecto sinérgico con nitrofurantoína como antibacteriano sobre *Escherichia coli* ATCC 11229, in vitro?**

Esta investigación fue de suma importancia debido a que abordó un problema muy relevante de salud pública, como son las enfermedades infecciosas del tracto urinario y la resistencia antimicrobiana asociada al tratamiento de los mismos; ya que este estudio contribuyó con la obtención de nueva evidencia científica que avale el tratamiento alternativo o coadyuvante de las patologías causadas por la bacteria en estudio y en especial las infecciones del tracto urinario.

Además de lo anterior, a nivel local, nacional y mundial actualmente existen muy pocos estudios que aborden más a fondo el conocimiento de las propiedades antimicrobianas del *Eryngium foetidum* L., todo por lo cual hace que el presente estudio tenga gran utilidad para la sociedad médica, pues va innovando y acrecentando nuevos conocimientos sobre las bondades de la flora local peruana y en especial sobre las bondades de las plantas de nuestra Amazonia.

Es resaltante el incremento de la resistencia farmacológica antibacteriana en la actualidad, por lo cual, al realizar este estudio, se contribuye al conocimiento de posibles sustancias que potencien a los fármacos antimicrobianos disponibles hasta el momento como la nitrofurantoina, pudiendo ser esté a futuro una buena opción como tratamiento complementario accesible al público, reduciendo costos y la resistencia farmacológica ya existente.

La hipótesis de investigación fue que el aceite esencial de *Eryngium foetidum* tiene efecto sinérgico con nitrofurantoína como antibacteriano sobre *Escherichia coli* ATCC 11229, in vitro.

Tuvo como objetivo general, determinar el efecto sinérgico del aceite esencial de *Eryngium foetidum* con nitrofurantoína como antibacteriano sobre *Escherichia coli* ATCC 11229, en estudio in vitro; y como **objetivos específicos**: evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eryngium foetidum* al 100% sobre *Escherichia coli* ATCC 11229, evaluar el efecto antibacteriano de nitrofurantoína a 300 µgr sobre *Escherichia coli* ATCC 11229.

## II. MARCO TEÓRICO

Dentro de las investigaciones previas relacionadas al problema tenemos al de Menchavez M. et al<sup>13</sup> (Filipinas, 2018), estudiaron las propiedades antimicrobianas de las hojas de *Eryngium foetidum* contra *E. coli* usando la técnica de discos de difusión. Encontraron, en cuanto a la acción antibacteriana contra a *E. coli*, 20 mm de zona de inhibición en la primera prueba, 21mm en la segunda y 20 mm en la tercera, con un promedio de 20 mm; concluyendo que esta planta podría usarse como agente antibacteriano.

Dutta S. et al<sup>14</sup> (India, 2017), realizaron estudios en relación a la acción antimicrobiana del extracto metanólico y acuoso de *Eryngium foetidum* contra *Escherichia coli*. Lo compararon con los medicamentos estándares como: ciprofloxacina, ceftriaxona, ampicilina y amikacina. Encontraron que, en cuanto al extracto acuoso y metanólico, a concentraciones de (50 µg/disco, 100 µg/disco y 200 µg/disco), no presentó ningún efecto antibacteriano ante *E. coli* (zona inhibitoria: 6mm en las tres concentraciones en los dos extractos); concluyendo así que ambos extractos de *E. foetidum* no poseen ningún efecto antibacteriano frente a *E. coli*.

Rodríguez M<sup>15</sup> (Costa Rica, 2017), evaluó el efecto antibacteriano de *Eryngium foetidum* frente a *Pseudomonas sp.* mediante el método de Pouch, encontrando que no hay interacción entre los efectos simples del tiempo y el tratamiento; sólo el efecto del empaque al vacío y el calor eran suficiente para reducir su crecimiento bacteriano.

Lingaraju et al<sup>12</sup> (India, 2016), evaluaron la actividad antimicrobiana de la esencia de *E. Foetidum* frente a *E. coli*. La preparación del extracto lo realizaron utilizando solventes orgánicos como cloroformo, éter de petróleo, metanol y acetato de etilo. El efecto fue medido en el agar mediante el uso de discos de difusión. Encontraron

una sensibilidad antimicrobiana superior en el extraído con acetato de etilo de entre los cuatro extractos, con 17 mm de tamaño del halo de difusión, llegando a la conclusión de que el extracto de *E. foetidum* obtenido con acetato de etilo si posee propiedades antimicrobianas frente a *E. coli*.

Kumar S et al<sup>16</sup> (India, 2016), estudiaron a gran escala plantas etno medicinales para la identificación de potenciales compuestos antibacterianos. Estudiaron un total de 662 extractos de plantas, de 222 especies (82 familias, 177 géneros), dentro de las cuales se encontraba *E. foetidum* y evaluaron la actividad antibacteriana mediante procedimiento de placa de agar frente a *E. coli*. Obtuvieron en lo referente al extracto acuoso de *Eryngium foetidum* frente a *E. coli*, una medida de 12mm del halo inhibitorio y al extracto metanólico 13mm; concluyendo que *E. foetidum* presentó efecto antibacteriano frente a *E. coli*.

Kouticheu L et al<sup>17</sup> (Camerún, 2016), estudiaron la actividad antimicrobiana de *Eryngium foetidum* contra *Helicobacter pylori* utilizando el procedimiento de microdilución en caldo. La CIM más baja encontrada fue (64 µg/ml) y el mayor espectro antibacteriano fue con el extracto metanólico de *Eryngium*, concluyeron que el extracto de metanólico de *Eryngium foetidum* podría ser una rica fuente de metabolitos con actividad antimicrobiana contra *Helicobacter pylori*.

Jimenes J et al<sup>18</sup> (Perú, 2016), estudiaron la actividad antimicrobiana de la esencia etanólica de *Eryngium foetidum* frente a *Escherichia coli*. No obtuvieron ninguna inhibición del crecimiento antibacteriano (cambio de turbidez), lo cual contrastó con el estándar (control positivo), con halos de 23.3 mm y 25 mm, logrados por gentamicina; por lo cual se llegó a la conclusión de que *E. coli* es resistente a la esencia de *Eryngium foetidum* L.

Dentro de las bases teóricas que fundamentan el estudio, debemos recordar primero a *Escherichia coli*, bacteria cilíndrica con pared delgada con peptidoglucanos negativos, anaerobio facultativo asociado a diversas patologías,<sup>5</sup> como gastroenteritis, infecciones extra intestinales como meningitis, sepsis e ITU.<sup>3</sup>

Esta bacteria se encuentra en el tubo digestivo y es responsable del 75- 90% de las ITU.<sup>4</sup> La estructura de este bacilo la conforman el núcleo polisacárido (antígeno común), el lípido A (endotoxina) y el lipopolisacárido externo somático O. Presenta cinco grupos patógenos diferentes que se relacionan con trastornos gastrointestinales como son ECEI (*E.C. entero invasivo*), ECET (*E. C. entero toxigénica*), ECEH (*E. C. entero hemorrágica*), ECEP (*E. C. entero patógena*) y ECEA (*E. C. entero agregativa*).<sup>5</sup> Dentro de los factores de virulencia tenemos a las adhesinas, exotoxinas e intiminas; y en cuanto a los factores patógenos urológicos al pili P y las fimbrias Dr.<sup>5</sup>

En el caso de las patologías urológicas como ITU, la mayor parte de los bacilos provienen del colon, llegan a la uretra contaminándola y de allí continúan su camino a la vejiga, y en los casos más severos pueden migrar hasta el riñón. La mayoría de cepas de *E. coli* puede producir ITU, y su virulencia en el sistema urológico se relaciona con la capacidad que posee de producir adhesinas, las cuales se unen a las células que recubren el epitelio del aparato uro-excretor y el tracto urinario, lo cual evita la eliminación bacteriana durante la micción. Además, su hemolisina HlyA, elimina los eritrocitos y otros tipos celulares de aparato urológico, trayendo consigo la liberación de citosinas y la consecuente estimulación de la respuesta inflamatoria local.<sup>5</sup>

Casi la totalidad de las infecciones son endógenas, pues *E. coli* proviene de la microbiota del mismo paciente, el cual puede cursar un cuadro infeccioso cuando su sistema de defensa se modifica.<sup>4</sup> Como tratamiento para erradicar este patógeno

de las vías urinarias bajas se cuenta como opciones de primera línea a nitrofurantoína, cefalexina, trimetoprim – sulfametoxazol, entre otros.<sup>19</sup>

La nitrofurantoína es un nitrofuran sintético que se usa para la prevención y tratamiento de las ITU.<sup>20</sup> Su mecanismo de acción es la inhibición del acetil-coA bacteriana, alterando su metabolismo de carbohidratos e impidiendo la síntesis de su pared celular. Su actividad antibacteriana está relacionada fuertemente con la orina y su acidez. Este medicamento en la mayoría de casos es bacteriostático, pero en altas dosis es bactericida.<sup>21</sup> Se absorbe rápida y completamente en tracto gastrointestinal, su vida media plasmática es 0.3-1 h y aproximadamente 40% se excreta sin cambios en la orina. Su indicación es de 100 mg, cada seis horas.<sup>19</sup>

La nitrofurantoína está aprobada para el tratamiento de infecciones urinarias inferiores y dentro de sus efectos adversos más comunes están las náuseas, vómitos y diarrea.<sup>20</sup> A pesar de contar con antibióticos efectivos como la nitrofurantoína para el tratamiento de patología urológica, hoy en día debido al abuso y uso inadecuado de estos medicamentos, se ha incrementado la resistencia antimicrobiana en modo significativo convirtiéndose en un problema de salud pública mundial.<sup>6</sup>

Según estudios realizados sobre resistencia antibacteriana, se pudo apreciar que la resistencia a nitrofurantoína alcanza cerca del 17%.<sup>22</sup> *E. coli*, como agente etiológico principal de ITU, su resistencia al tratamiento antimicrobiano puede alcanzar hasta un 35%,<sup>23</sup> motivo por el cual hay un creciente uso de medicina complementaria basada en plantas para el tratamiento de diferentes patologías como la ITU.<sup>24</sup>

Dentro de la composición de las plantas medicinales se encuentran los aceites esenciales, los mismos que poseen una combinación compleja de compuestos volátiles, en especial los terpenos monoterpenos y sesquiterpenos, que se obtienen del metabolismo secundario de las plantas, y en la industria farmacéutica son

utilizados como antimicrobiano principalmente.

Los monoterpenos son los más abundantes, representando hasta el 90% del aceite y los más representativos son el  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, mirceno, limoneno, 1,8-cineol y alcanfor.<sup>25</sup> El aceite tiene efectividad tanto en su estadio de vapor, como al entrar en íntimo contacto contra diversos patógenos gram negativos y positivos, atribuido a sus principales compuestos químicos, los mismos que cuentan con propiedades aromáticas, antioxidantes y antimicrobianas que al parecer tienen mejor actividad al parecer su actividad antibacteriana sería resultado de la acción combinada,<sup>26</sup> motivo por el cual su actividad antimicrobiana no se encuentra completamente dilucidada.<sup>25</sup>

Las teorías refieren que su acción está en relación a tres propiedades: su afinidad o no al agua; sus compuestos químicos; y el agente patógeno que tiene que debe lisar. Su carácter guarda relación con la propiedad que posee de modificar y atravesar los lípidos que forman parte de la membrana del patógeno, lo que trae consigo su modificación y destrucción, incrementado su permeabilidad, lo que conlleva a la ruptura y escape de los componentes citoplasmáticos del patógeno con la final muerte bacteriana. Por otro lado, sus componentes accionan sobre la fosforilación del ATP y la translocación de protones.

Los microorganismos gram negativos son en menor grado susceptibles al efecto, gracias a los lipopolisacáridos que forman parte de su membrana celular, lo cual limita el pase de los compuestos hidrófobos, y trae consigo el retraso de su acción, por lo cual requerirá mayor tiempo para lograr su efecto letal en el patógeno.<sup>26</sup>

*Eryngium foetidum* L. es una planta herbácea de olor fuerte aromático, de 30 a 50 cm de alto, que en nuestro país está ampliamente distribuida en las regiones de Loreto y Ucayali.<sup>11</sup> Esta planta aromática se caracteriza por poseer en su composición aceites esenciales.<sup>27</sup> Tiene raíz gruesa, tallo corto y compacto y hojas



en forma de roseta cerca al suelo. Las semillas son muy pequeñas y toman dos semanas en germinar cuando son frescas.<sup>28</sup>

Dentro de su clasificación taxonómica, es una planta perteneciente al reino Plantae, sub reino Viridiplantae, clase Magnoliopsida y especie *Eryngium foetidum* L.<sup>27</sup> En nuestro país es conocida como sachaculantro, siuca culantro, suico o cilantro.<sup>11</sup> Dentro de la medicina tradicional, la hoja es usada para aliviar el dolor de estómago, flatulencia y la infusión de la planta completa se usa para combatir el vómito.<sup>28</sup> En la Amazonía peruana es utilizada para el tratamiento del resfriado, espasmo abdominal o como acelerador del parto.<sup>11</sup>

Los componentes químicos *Eryngium foetidum* L., en cuanto a su aceite esencial obtenido en la Amazonia peruana son principalmente: alpha.-Pinene en 23,41%, Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl) 17,26%; o-Cymene 15,08%; gamma.-Terpinene 6,39%; D-Limonene 5,9%; Phenol, 2,3,5,6-tetramethyl 0,14% entre otros compuestos.<sup>27</sup>

Sinergia se define como la actividad activa y concertada de diferentes estructuras para realizar una función en común.<sup>30</sup> En farmacología, se define como el acto en conjunto de dos o más sustancias bio activas, las cuales se potencian para la obtención de un efecto de mayor intensidad que si lo hicieran de manera aislada.<sup>31</sup>

Para que exista sinergia farmacológica de dos sustancias, no es condición suficiente que el efecto de ambos se ejerza directamente en el mismo tejido susceptible, pues toda función es susceptible de modificación por el efecto ejercido en cualquier fase que la constituye.<sup>31</sup>

### III. METODOLOGÍA

#### 3.1. Tipo y diseño de Investigación

**Tipo:** Aplicada.<sup>33</sup>

**Diseño:** Experimental con múltiples repeticiones y post prueba.<sup>33</sup>

Esquema:

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4

RG1-4: Grupos de cepas de *E. coli* ATCC 11229.

X1:nitrofurantoína 300µg +aceite esencial de *Eryngium foetidum*

X2:Aceite esencial de *Eryngium foetidum* al 100%

X3:nitrofurantoína 300µg (control positivo).

X4:DMSO (control negativo).

O1-4: Efecto antibacteriano (halo inhibitorio).

#### 3.2. Variables y Operacionalización

**VI:** Agente antibacteriano.

- **No farmacológico:** Aceite esencial de *Eryngium foetidum*
- **Farmacológico:** nitrofurantoína 300µg.

**VD:** Efecto antibacteriano.

### 3.3. Población y Muestra

#### **Población:**

Estuvo conformada en su totalidad por las siembras de *Escherichia coli* ATCC 11229 adquiridos de la institución GenLab del Perú SAC.

#### **Muestra:**

Fue estimada utilizando la fórmula de comparación de dos medias:<sup>34</sup> 10 repeticiones (Anexo 5).

**Unidad de análisis:** la constituyeron cada Placa Petri que contuvieron la siembra de *E. coli* y que obedecieron los criterios de inclusión.

#### **Criterios de selección:**

- Criterios de inclusión: todas las siembras de *E. coli* que fueron tratadas con el aceite de *E. foetidum* y nitrofurantoína fueron cultivadas por 24 horas
- Criterios de exclusión: todas las siembras de la cepa en estudio que fueron contaminadas.

### 3.4. Técnica e Instrumento de recolección de datos

#### **Técnica:**

Consistió en la observación directa y medición del efecto del agente antibacteriano, donde se midió los halos producidos alrededor de los discos de difusión en el agar.

#### **Instrumento:**

Fue utilizada la ficha elaborada para la toma de la información que fue preparada para la investigación; donde estuvieron consignados los siguientes datos: número de placas, efecto antibacteriano del aceite al 100 % de *E. foetidum*, nitrofurantoína (control positivo), la combinación del aceite de *E. foetidum* más nitrofurantoína y

DMSO (control negativo) (Anexo N°4).

### 3.5. Procedimiento

Se realizó la identificación taxonómica de *Eryngium foetidum* L. en la Univ. Antenor Orrego (Anexo N°7) y se adquirió la cepa certificada de la bacteria en estudio.

Luego respetando lo señalado por la OMS,<sup>35</sup> se procedió a extraer el aceite esencial, para lo cual primero fueron lavadas las hojas seleccionadas con cloruro de sodio y se dejaron secar a temperatura ambiente, para después deshidratarlas en un horno a una temperatura 45°C durante 4 días. Pasado este tiempo, se prensaron manualmente hasta triturarlas y fueron reservadas en bolsas negras selladas de manera hermética, y se llamó “muestra seca”.<sup>36</sup>

Para la producción del aceite, se colocó la muestra seca en un balón con capacidad para 5 litros hasta que cubrió las  $\frac{3}{4}$  partes del balón, y en otro de capacidad de 3 litros, se llenó con 2.5 litros de agua destilada. Ambos fueron cerrados de manera hermética y estuvieron comunicados por un ducto. Utilizando una cocina se calentó el balón con agua, y el vapor de este, atravesó el conducto que lo comunica con el balón donde se encontraba la muestra seca, lo cual provocó el arrastre de los componentes fitoquímicos de la planta, y este vapor finalmente terminó siendo conducido al condensador, donde se convirtió en un líquido bifásico, en el cual el aceite fue el sobrenadante por la diferencia de densidades, quedando así en la superficie, para su posterior extracción. Así se obtuvo el aceite al 100%, que fue colocado dentro del recipiente de vidrio oscuro y se preservó a una temperatura de 4° C para su posterior utilización.<sup>36</sup>

La cepa de *E. coli* se cultivó utilizando el procedimiento de agotamiento en superficie en Agar Mueller Hinton. Para el sembrado se utilizó un hisopo estéril donde se impregnó el inóculo microbiano, se deslizó en la capa superior del cultivo de cada placa, a lo que se denominó “sembrado por estrías en superficie”; así la bacteria se encontró formando una capa uniforme en la superficie de cada placa.<sup>37</sup> El efecto sinérgico antibacteriano se evaluó utilizando los discos de sensibilidad

antimicrobiana sobre el agar. Utilizando una pinza estéril, se colocó los discos preparados previamente; el primero fue el disco de nitrofurantoína (control positivo), luego el disco con el aceite esencial de *E. foetidum* al 100%, luego el disco de nitrofurantoína más el aceite esencial y por último el disco con DMSO (control negativo). Todos los discos fueron colocados de manera equidistante uno del otro, y a aproximada de 1cm de distancia del borde de la placa Petri.<sup>38</sup>

Se tapó cada placa y se dejó reposar por un espacio de 15 minutos, después de lo cual se colocó de manera invertida en el horno de incubación a una temperatura de 35 - 37°C por 24 horas, luego de lo cual fueron medidos los resultados.<sup>38</sup>

### **3.6. Métodos de análisis de datos**

Fueron tabulados con Microsoft Excel y registrados en la Ficha que fue elaborada para su recolección. Luego fueron procesados en SPSS versión 25. Se comprobó la normalidad de estos mediante la fórmula de Shapiro-Wilk. Asimismo, también se analizó los datos utilizando pruebas paramétricas, utilizando ANOVA para analizar la varianza de un factor con pruebas post hoc, y admitiendo diferentes varianzas, se utilizó el test T3 Dunnett.

### **3.7. Aspectos éticos**

Los resultados no fueron alterados ni manipulados de ninguna manera, como lo señala el CMP: “los resultados provenientes de cualquier investigación sean cual fuere el resultado no se manipulará ni falsificará”.<sup>39</sup>

Esta investigación se realizó de manera independiente, por lo cual la autora no presentó ningún conflicto de interés.

#### IV. RESULTADOS

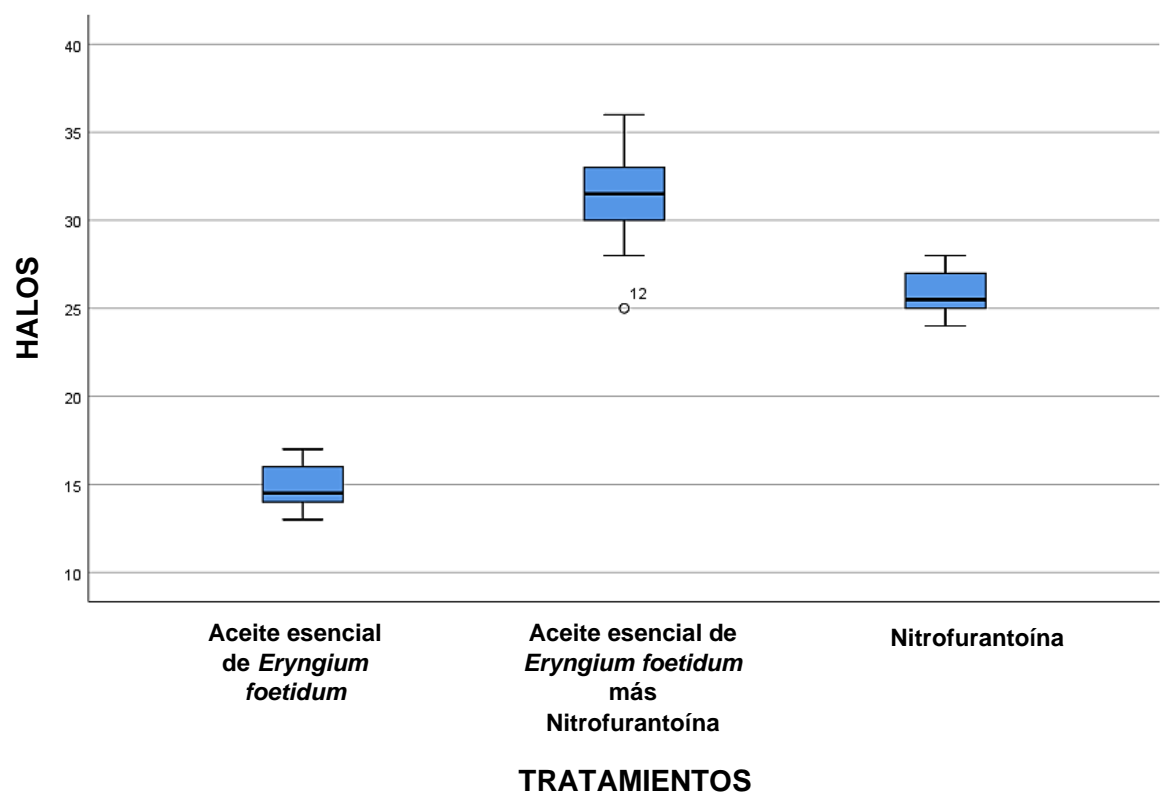
**TABLA 01: EFECTO SINÉRGICO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Eryngium foetidum* AL 100% CON NITROFURANTOINA 300 µg FRENTE A *Escherichia coli*, IN VITRO.**

HALOS DE INHIBICIÓN	Halos de Inhibición medidos en (mm)							
	N	Media	Desviación	Error	IC (95% de confianza)		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Aceite esencial de <i>Eryngium Foetidum</i>	10	14,80	1,229	,389	13,92	15,68	13	17
Aceite esencial de <i>Eryngium foetidum</i> con Nitrofurantoína	10	31,10	3,107	,983	28,88	33,32	25	36
Nitrofurantoína	10	25,70	1,337	,423	24,74	26,66	24	28
Total	30	23.87	7,181	1,311	21,19	26.55	13	36

Fuente: Ficha de Recolección

En esta tabla se muestra que la media de los halos de inhibición obtenidos de la sinergia del aceite esencial de *Eryngium foetidum* con nitrofurantoína (31,10 mm) es superior al del aceite esencial de *Eryngium foetidum* y de nitrofurantoína por separado.

**GRÁFICO 01: COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Eryngium foetidum* AL 100%, *Eryngium foetidum* con NITROFURANTOÍNA 300µg y NITROFURANTOÍNA 300µg, IN VITRO**



Fuente: Tabla 01

El gráfico 01 muestra el efecto sinérgico del aceite esencial de *Eryngium foetidum* con nitrofurantoína como antibacteriano frente a *Escherichia coli*, evaluado mediante la medida de los halos de inhibición.

**TABLA 02: ANOVA DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Eryngium foetidum* AL 100%, *Eryngium foetidum* con NITROFURANTOÍNA 300 µg Y NITROFURANTOÍNA 300 µg FRENTE *Escherichia coli*.**

**ANOVA**

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1378,867	2	689,433	159,646	,000
Dentro de grupos	116,600	27	4,319		
Total	1495,467	29			

Fuente: Ficha de Recolección.

Se demostró que los resultados son significativamente diferentes con un nivel alto de significancia ( $p=0,000$ ).



**TABLA 03: PRUEBA HSD TUKEY PARA EVALUAR EL EFECTO SINÉRGICO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Eryngium foetidum* AL 100% CON NITROFURANTOÍNA 300 µg COMPARADO CON NITROFURANTOÍNA 300µg SOLA SOBRE *Escherichia coli* IN VITRO.**

HSD Tukey		Diferencia de medias	Error	Sig.	IC (95% de confianza)	
					Límite inferior	Límite superior
Aceite esencial de <i>Eryngium foetidum</i>	AEEFNT	-16,300*	,929	,000	-18,60	-14,00
	NT	-10,900*	,929	,000	-13,20	-8,60
Aceite esencial de <i>Eryngium foetidum</i> con nitrofurantoína	AEEF	16,300*	,929	,000	14,00	18,60
	NT	5,400*	,929	,000	3,10	7,70
Nitrofurantoína	AEEF	10,900*	,929	,000	8,60	13,20
	AEEFNT	-5,400*	,929	,000	-7,70	-3,10

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: Ficha de Recolección.

La combinación del aceite esencial de *Eryngium foetidum* con nitrofurantoína (AEEFNT) mostró el efecto antibacteriano superior con comparación con el aceite esencial de *Eryngium foetidum* solo y la nitrofurantoína sola, con un halo de inhibición de 31,10 mm.

**TABLA 04. COMPARACIÓN EFECTO SINÉRGICO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Eryngium foetidum* CON NITROFURANTOÍNA COMPARADO CON NITROFURANTOÍNA SOLA SOBRE *Escherichia coli* IN VITRO.**

HSD Tukey <sup>a</sup>		Halos		
Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Aceite esencial de <i>Eryngium foetidum</i>	10	<b>14,80</b>		
Nitrofurantoína	10		<b>25,70</b>	
Aceite esencial de <i>Eryngium foetidum</i> con Nitrofurantoína	10			<b>31,10</b>
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10.000.

Fuente: Ficha de Recolección

La combinación del aceite esencial de *Eryngium foetidum* con nitrofurantoína mostró el efecto antibacteriano superior (halo: 31,10 mm) en comparación con el aceite esencial de *Eryngium foetidum* solo y la nitrofurantoína sola.

## V. DISCUSIÓN

La presente investigación fue realizada para determinar si nitrofurantoína posee un efecto sinérgico con *Eryngium foetidum* (Sachaculantro) para la inhibición del crecimiento microbiano de *Escherichia coli*; motivo por el cual se planteó como objetivo determinar el efecto sinérgico de ambos compuestos como antibacterianos sobre *Escherichia coli* ATCC 11229.

Los aceites esenciales son una combinación compleja de compuestos volátiles que se obtienen del metabolismo secundario de las plantas y que en industria farmacéutica son utilizados principalmente como antimicrobianos,<sup>25</sup> ya que al entrar en contacto con patógenos como los Gram negativos modifican y atraviesan los lípidos que forman parte de la membrana, lo que trae consigo su modificación y destrucción.<sup>26</sup>

Múltiples estudios han demostrados el efecto de *Eryngium foetidum* frente a *Escherichia coli* como antimicrobiano,<sup>12,13,16,17</sup> pero ninguno de ellos evaluó el efecto sinérgico de este compuesto con algún antimicrobiano frente a ninguna bacteria, y mucho menos frente a la cepa antes señalada.

En el presente estudio experimental, se encontró que la media de los halos de inhibición obtenidos de la sinergia del aceite esencial de *Eryngium foetidum* con nitrofurantoína (31,10 mm) fue superior a los halos de inhibición del aceite esencial de *Eryngium foetidum* y de nitrofurantoína por separado (tabla 1).

En relación a este aspecto, tenemos al estudio de Menchavez M. et al<sup>13</sup> (Filipinas, 2018), donde al estudiar las propiedades antimicrobianas de las hojas de *Eryngium foetidum* contra *E. coli* obtuvieron un promedio de 20 mm en sus 3 repeticiones concluyeron que esta planta podría usarse como agente antibacteriano

Kumar S et al<sup>16</sup> (India, 2016), en su estudio de plantas etno medicinales, encontró que los extractos acuoso y metanólico de *Eryngium foetidum* frente a *E. coli* lograron una media de 12mm del halo inhibitorio en el extracto acuoso y de 13mm en el etanólico concluyendo que estos poseen efecto antibacteriano. También tenemos a Lingaraju et al<sup>12</sup> (India, 2016), donde el acetato de etilo presentó sensibilidad antimicrobiana con 17 mm de tamaño del halo de difusión concluyendo que esta planta podría usarse como agente antibacteriano.

Sin embargo, Jimenes J et al<sup>18</sup> (Perú, 2016), estudiaron la actividad antimicrobiana de la esencia etanólica de *Eryngium foetidum* frente a *Escherichia coli* pero no obtuvieron inhibición del crecimiento antibacteriano al contrastarlo con su estándar (gentamicina). Los halos de inhibición en las 2 repeticiones que realizaron en el estudio fueron de 23.3 mm y 25 mm. Asimismo en el estudio de Dutta S. et al<sup>14</sup> (India, 2017), encontraron que el extracto acuoso y metanólico de *Eryngium foetidum* frente a *E. coli*, a concentraciones de (50 µg/disco, 100 µg/disco y 200 µg/disco), no presentó ningún efecto antibacteriano.

Por otro lado en cuanto a la significancia estadística del estudio, tenemos que éste guarda relación con el estudio de Kumar S et al<sup>16</sup> (India, 2016), donde encontró en cuanto al efecto antibacteriano de los extractos acuoso y metanólico de *Eryngium foetidum* frente a *E. coli* una diferencia estadísticamente significativa, concluyendo que éstos poseen efecto antibacteriano, lo cual tiene concordancia con nuestro estudio, donde se obtuvo el valor  $p=0,000$  en relación al efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eryngium foetidum* con nitrofurantoína frente a *Escherichia coli*. Lo cual difiere al estudio de Jimenes J et al<sup>18</sup> (Perú, 2016), donde estudiaron la actividad antimicrobiana de la esencia etanólica de *Eryngium foetidum* frente a *Escherichia coli*, no obtuvieron ninguna inhibición del crecimiento antibacteriano, con una significancia estadística de  $p=0.14$ .

En esta investigación se encontró que *E. foetidum* como aceite esencial al 100% presentó un halo de inhibición de 14,80 mm, en cambio, cuando se asocia a

nitrofurantoína, fue de 31,10 mm, y de nitrofurantoína sola de 25,70mm (tabla 3), lo que claramente demuestra la eficacia de la sinergia con el incremento en el halo inhibitorio de la sinergia que poseerían las dos sustancias frente a *Escherichia coli*.

Respecto a la sinergia, se ha descrito que ésta se da por el mecanismo de sumación<sup>20</sup> debido a que *Eryngium foetidum* y nitrofurantoína producen su efecto antibacteriano por mecanismos diferentes. En el caso de *Eryngium foetidum* la bibliografía señala que actuaría como bactericida, gracias a su capacidad de modificar y atravesar los lípidos que forman parte de la membrana del patógeno, lo que trae consigo su modificación, incrementado su permeabilidad con la final muerte bacteriana<sup>26</sup>. Por otro lado, nitrofurantoína, tiene por mecanismo la inhibición del acetil-coA bacteriana, alterando su metabolismo de carbohidratos e impidiendo la síntesis de su pared celular y en la mayoría de casos es bacteriostático, pero en altas dosis es bactericida<sup>21</sup>; viendo así que juntas dan como resultado un mayor efecto, lo cual fue demostrado en nuestros resultados

Es importante señalar que en nuestro estudio se utilizó el aceite esencial de *Eryngium foetidum*, en cambio en el estudio de Jimenes J et al<sup>18</sup> y en el de Dutta S. et al<sup>14</sup> se utilizaron los extractos metanólico y acuosos del mismo, lo cual podría marcar la diferencia en los resultados obtenidos, puesto que al evaluar las propiedades antibacterianas de *Eryngium foetidum* estas se encuentran con mejor disposición y concentración en su forma de aceite<sup>42</sup>. Recordemos que los aceites esenciales tienen la propiedad de modificar y atravesar los lípidos que forman parte de la membrana del patógeno, lo que trae consigo su modificación y destrucción, incrementado su permeabilidad, lo que conlleva a la ruptura y escape de los componentes citoplasmáticos del patógeno con la final muerte bacteriana.<sup>26</sup>

Otro factor que pudiera también intervenir en la evaluación del efecto antibacteriano del aceite esencial de *E. foetidum* es el tipo de bacteria a la que se enfrenta el mismo, pues los microorganismos gram negativos son en menor grado susceptibles al efecto, gracias a los lipopolisacáridos que forman parte de su membrana celular,

lo cual limita el pase de los compuestos hidrófobos, y trae consigo el retraso de su acción, por lo cual requerirá mayor tiempo para lograr su efecto letal en el patógeno.<sup>26</sup>

Por todo lo antes señalado y evaluado, en nuestra investigación se observó que el antimicrobiano de referencia, utilizado en la primera línea de tratamiento en las ITU producidas por *Escherichia coli*, es potenciado por *Eryngium foetidum* (Sachaculantro), lo cual demuestra que el aceite esencial de *Eryngium foetidum* tiene efecto sinérgico con nitrofurantoína como antibacteriano sobre *Escherichia coli*, confirmando así la sinergia antibacteriana de ambos compuestos, la cual formó halos superiores a la de los compuestos por separado.

Frente a los resultados antes mencionados debemos notar la relevancia de los mismos, en cuanto estos podrían apoyar futuros estudios para la utilización *Eryngium foetidum* como potenciador de nitrofurantoína y así poder ser de utilidad en casos de resistencia antibacteriana por el uso indiscriminado de antibióticos que actualmente se da en nuestro país, por lo cual en el futuro este tratamiento podría implementarse y producirse como alternativa para el tratamiento de las infecciones del tracto urinario. Adicional a esto, podría tener un impacto positivo en las zonas rurales distantes, donde se puede difundir la información sobre los efectos antimicrobianos de dicha planta para potenciar los tratamientos actuales y evitar recurrencias en la infección.

## VI. CONCLUSIONES

1. Existe efecto sinérgico antibacteriano entre el aceite esencial de *Eryngium foetidum* con nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC 11229
2. La combinación del aceite esencial de *Eryngium foetidum* con nitrofurantoína mostro efecto superior a comparación a estos compuestos por separado.
3. Nitrofurantoína a 300 µgr si posee efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* ATCC 11229

## VII. RECOMENDACIONES

- Promover la realización de futuras investigaciones para evaluar la sinergia de este compuesto a otros antimicrobianos que también presentan altas tasas de resistencia, para así poderlos potenciar otros y disminuir y que estos puedan tener mayor efectividad terapéutica,
- Incentivar la realización de estudios que puedan profundizar en cuanto a que parte específica de *Eryngium foetidum* posee la mayor cantidad de propiedades antimicrobianas. Además, sería de suma importancia el que aunado se realicen estudios sobre los componentes de *Eryngium foetidum* de las diferentes ciudades del país donde se encuentra esta planta, para así poder identificar la diferencia de los compuestos que la conforman dependiendo de los diferentes sitios geográficos.



## REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. Vigilancia epidemiológica de las infecciones de transmisión y otras infecciones del tracto reproductivo. Ginebra. 2005. [Citado 24 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/9241592656/es/>
2. Blanco V, Maya J, Correa A, Perengez M, Muñoz J, Motó G, et al. Prevalencia y factores de riesgo para infecciones del tracto urinario de inicio en la comunidad causadas por *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido en Colombia. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016; 34(9): 559-565. [Citado 24 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5061630/>
3. Gonzalez E. Infecciones del tracto urinario. Sociedad Española de Nefrología. *Revista Nefrología al Día*. España. 2015. 37(6):97–118. [Citado 24 de Julio del 2019]. Disponible en: <http://www.revistanefrologia.com/es-articulo-infecciones-urinarias-255>
4. Baltázar M, Ostos A. Perfil Microbiológico y resistencia Bacterianas de Infecciones del Tracto urinario adquiridas en la comunidad en pacientes ambulatorios del Hospital Nacional Daniel A. Carrion. Callao - Perú [Tesis Especialidad Medicina Interna]. Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2002. [Citado 24 de Julio del 2019]. Disponible en: <sup>18</sup>[http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/1847/Alvarado\\_om.pdf?sequence=2&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/1847/Alvarado_om.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
5. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. *Microbiología Médica*. 7ma ed. España: Elsevier; 2014. p. 258
6. Organización Mundial de la Salud. El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo. [Internet]. [Subido 30 de abril del 2014; Citado 24

- de Julio del 2019]. Disponible en:  
<https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>
7. Páscual D, Perez E, Morales I, Castellanos I, Gonzáles E. Algunas consideraciones sobre el surgimiento y la evolución de la medicina natural y tradicional. MEDISAN [revista en Internet]. 2014 Oct 18 (10): 1467-1474. [Citado 24 de Julio del 2019]. Disponible en:  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S102930192014001000019&Ing=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102930192014001000019&Ing=es)
  8. Organización Mundial de la Salud. Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales. Ginebra. Suiza. 2003. [Citado 24 de Julio del 2019]. Disponible en:  
<https://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s5527s/s5527s.pdf>
  9. Organización Mundial de la Salud [Internet]. Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales. [Subido 22 de Junio del 2004; Citado 24 de Julio del 2019]. Disponible en:  
<https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/>
  10. Instituto Nacional de Salud. [Internet]. Plantas Tradicionales. [Citado 24 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://web.ins.gob.pe/es/salud-intercultural/medicina-tradicional/plantas-medicinales>
  11. Ministerio de Agricultura. [Internet]. Sacha Culantro. [Citado 24 de Julio del 2019]. Disponible en:  
[https://www.minagri.gob.pe/portal/download/pdf/sectoragrario/agricola/lineasdecurtivotivosemergentes/SACHA\\_CULANTRO.pdf](https://www.minagri.gob.pe/portal/download/pdf/sectoragrario/agricola/lineasdecurtivotivosemergentes/SACHA_CULANTRO.pdf)
  12. Lingaraju D, Sudarshanna M, Mahendras C, Rao P. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Leaf Extracts of Eryngium Foetidum L. (Apiaceae). Indo J Pharm Research India. 2016; 6(2): 4339-4344. [Citado 24 de Julio del 2019]. Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/publication/319527644\\_PHYTOCHEMICAL\\_SCREENING\\_AND\\_ANTIMICROBIAL\\_ACTIVITY\\_OF\\_LEAF\\_EXTRACTS\\_OF\\_ERYNGIUM\\_FOETIDUM\\_L\\_APIACEAE](https://www.researchgate.net/publication/319527644_PHYTOCHEMICAL_SCREENING_AND_ANTIMICROBIAL_ACTIVITY_OF_LEAF_EXTRACTS_OF_ERYNGIUM_FOETIDUM_L_APIACEAE)

13. Menchavez M, Catipay J, Espra A, Castillo P. Antibacterial Properties of *Bambusa vulgaris* and *Eryngium foetidum* against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. *Global J Medicinal Plant Research*. 2018; 10(2): 145-152. [Citado el 05 de Agosto del 2019]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/334586732\\_Antibacterial\\_Properties\\_of\\_Bambusa\\_vulgaris\\_Bamboo\\_Leaves\\_and\\_Eryngium\\_foetidum\\_Culantro\\_Leaves\\_against\\_Staphylococcus\\_aureus\\_and\\_Escherichia\\_coli\\_bacteria](https://www.researchgate.net/publication/334586732_Antibacterial_Properties_of_Bambusa_vulgaris_Bamboo_Leaves_and_Eryngium_foetidum_Culantro_Leaves_against_Staphylococcus_aureus_and_Escherichia_coli_bacteria)
14. Dutta S, Bhattacharjee A, Yadav M, Shougrakpam P, Monin R, Das A., et al. Antibacterial activity of spinny coriander (*eryngium foetidum* linn.) on gram positive and gram-negative bacteria. *Int J Recent Scientific Research* 2017; 8(9): 19959-19962. [Citado 05 de Agosto del 2019]. Disponible en: <http://www.recentscientific.com/antibacterial-activity-spiny-coriander-eryngium-foetidum-linn-gram-positive-and-gram-negative-bacter>
15. Rodríguez M. Evaluación del efecto antimicrobiano y antioxidante de las especias: culantro de coyote (*Eryngium foetidum*), jengibre (*Zingiber officinale*) y orégano (*Origanum vulgare* L.) para ser usados como una alternativa natural en la elaboración del chorizo cocido. [Tesis]. Costa Rica. Universidad de Costa Rica; 2017. [Citado 28 de Julio del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/handle/123456789/4343>
16. Kumar S, Kishore Y, Padi L, Parks Y, Kumar T, Bae H. Large Scale Screening of Ethnomedicinal Plants for Identification of Potential Antibacterial Compounds. *Molecules India*. 2016; 21(3):1-20 [Citado 05 de Agosto del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26985889>
17. Kouitchou L, Eyousm B, Nguepii E. In Vitro and In Vivo Anti-Helicobacter Activities of *Eryngium foetidum*, *Bidens pilosa*, and *Galinsoga ciliata* against *Helicobacter pylori*. *Hindawi Pub Corp BioMed Research Int Camerún*. 2016; 7(2):1-7 [Citado el 05 de Agosto del 2019]. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/2171032/>
18. Jimenes J, Imán A. Actividad antioxidante y antibacteriana in vitro de las hojas del *Coriandrum sativum* (Culantro) y *Eryngium foetidum* (Sachaculantro), frente

a dos bacterias. [Tesis]. Iquitos. Universidad Nacional de Amazonía Peruana; 2016. [Citado 28 de Julio del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/4105>

19. Instituto Nacional Materno Perinatal. Guías de práctica clínica y de procedimientos en Obstetricia y Perinatología. Lima. 2018. 2da ed. p. 102- 108. [Citado 28 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://www.inmp.gob.pe>
20. Brunton L, Hilan D, Kanollmann B. Goodman y Gillman las bases farmacológicas de la terapéutica. 13va ed. México: Mc Graw Hill Interamericana Editores S. A; 2019. p. 1018
21. Katzung B., Trevor A. Farmacología Básica y Clínica. 13va ed, México, Ed Mc Graw Hill Interamericana Editores S.A.C. México. p. 867
22. Durán L. Resistencia antimicrobiana e implicancias Para El Manejo de Infecciones del Tracto Urinario. Rev Med Clin Condes. España. 2018; 29(2): 213-221. [Citado 24 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864018300294>
23. Tandogdhu Z, Whagenlehner F. Global epidemiology of urinary tract infections. Curr Opin Infect Dis. 2016;29(1):9-73. [Citado 24 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26694621>
24. Diéz M, Gallego C, Méndez S, Buruaga S, Salinas E. Fitoterapia en infecciones del tracto urinario. Rev Farm Profesional.2014; 28 (2): 32-37. [Citado 24 de Julio del 2019]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf-X0213932414958658>
25. Usano J, Pála J, Díaz S. Aceites esenciales: conceptos básicos y actividad antibacteriana. Rev Reduca (Biología): Serie Botánica. 2014; 7 (2): 60-70. [Citado 12 de Agosto del 2019]. Disponible en: <http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/1553/1747>
26. Reyes F, Palou E, López A. Métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana y de determinación de componentes químicos de los aceites esenciales. Rev Temas selectos de Ingeniería de alimentos. México. 2014; 8(1): 68-78. [Citado 12 de agosto del 2019]. Disponible en:

<http://web.udlap.mx/tsia/files/2015/05/TSIA-81-Reyes-Jurado-et-al-2014.pdf>

27. Rivera L. Estudio comparativo del aceite esencial de sacha culantro *Eryngium foetidum* L. de diferentes lugares de la región Amazonas. [Tesis]. Chachapoyas. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; 2017. [Citado 12 de agosto del 2019]. Disponible en: <http://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/UNTRM/1168/informe%20tesis%20sacha%20culantro.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
28. Morales J. Cultivo del cilantro, cilantro ancho y perejil. Fundación del desarrollo Agropecuario Inc. Sol de Invierno S. A. República Dominicana. 2015; 35(1): 1-26 [Citado 12 de Agosto del 2019]. Disponible en: <http://www.cedaf.org.do/publicaciones/guias/download/cilantro.pdf>
29. Integrated Taxonomic Information System. *Eryngium foetidum* L. [Internet]. [Citado 12 de agosto del 2019]. Disponible en: [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=29507#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=29507#null)
30. Sinergia. Real Academia de la Lengua Española. [Citado 12 de Agosto del 2019]. Disponible en: <https://dle.rae.es/sinergia>
31. Mardones J, Muñoz. Farmacología General. Universidad de Chile. Fondo Universitario Universidad de Chile. 2017. p. 17. [Citado 12 de Agosto del 2019]. Disponible en: <https://www.bcn.cl/obtienearchivo?id=documentos/10221.1/55482/2/203255.pdf&amp;>
32. Cárdenas D, Marir C, Suárez L, Guerrero A, Nofuya P. Plantas útiles de Lagarto Cocha y serranía de Churumbelo en el departamento de Putumayo. Inst Amazónico de Inv Científicas, SINCHI. Colombia. 2012; 54(23): 1-39. [Citado 12 de Agosto del 2019]. Disponible en: <https://www.sinchi.org.co/files/publicaciones/publicaciones/pdf/PlantasUtiles01.pdf>
33. Sampieri H., Fernández C., Baptista P. Metodología de la Investigación. 6ta ed. México D.F: McGraw Hill. 2016

34. García J, Reding A, López J. Cálculo del tamaño de muestra en educación médica. *Inv Ed Med* 2013;2(8):217-224. [Citado 12 de Agosto del 2019]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=349733226007>
35. Organización Mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3er ed. Ginebra. 2005. p. 7- 27 [Citado 22 de Setiembre del 2019]. Disponible en: [https://www.who.int/topics/medical\\_waste/manual\\_bioseguiridad\\_laboratorio.pdf](https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguiridad_laboratorio.pdf)
36. Peredos H, Palous E, López A. Aceite esenciales: método de extracción. Temas seletos de Ingeniería de Alimentos3-1. Universidad de Puebla. México. 2009. p. 24-32. [Citado 22 de Setiembre del 2019]. Disponible en:[https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf)
37. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el método de Disco Difusión. Lima. 2002. p. 16. [Citado 22 de Setiembre del 2019]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%2002.Pdf>
38. Bagul U, Sivagurunathan M, Sivakumar E. Antibiotic Susceptibility Testing: a review on current practices. *Int J Pharm*. 2016; 6(3): 11-17. [Citado 22 de Setiembre del 2019]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/306505267\\_ANTIBIOTIC\\_SUSCEPTIBILITY\\_TESTING\\_A\\_REVIEW\\_ON\\_CURRENT\\_PRACTICES](https://www.researchgate.net/publication/306505267_ANTIBIOTIC_SUSCEPTIBILITY_TESTING_A_REVIEW_ON_CURRENT_PRACTICES)
39. Colegio Médico del Perú. Código de ética y Deontología [en línea]. 2018. [Citado 22 de Febrero del 2020]. Capítulo 6. Del Trabajo de Investigación. Disponible en: <https://www.demo2020.cmp.org.pe/wp-content/uploads/2020/01/CODIGO-DE-ETICA-Y-DEONTOLOG%C3%8DA.pdf>
40. Mateos P. Agentes Antimicrobianos y microorganismos. Departamento de

Microbiología y Genética. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. España. 2016. Pág. 9. [Citado 12 de Agosto del 2019]. Disponible en: [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua-cuba/a3-agentes\\_antimicrobianos\\_y\\_microorganismos.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua-cuba/a3-agentes_antimicrobianos_y_microorganismos.pdf)

41. Clinical and Laboratory Standars Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. USA. January 2015. 20 ed. p. 15 –39. [Citado 12 de Agosto del 2019]. Disponible en: [https://clsi.org/media/1631/m02a12\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/1631/m02a12_sample.pdf)
42. Castro D, Jaiber J, Serna R, et al. Cultivo y producción de plantas aromáticas y medicinales. Universidad Católica de Oriente. 2013. p. 83 -86. [Citado 05 de Noviembre del 2020]. Disponible en: <https://www.uco.edu.co/investigacionuco/fondoeditorial/catalogo/libroplantasaromaticas2013.pdf>

# **ANEXOS**



## ANEXO 1. MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEF. CONCEPTUAL	DEF. OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
<p>V. I: Agente</p> <p>Antibacteriano</p> <p>No farmacológico (<i>Eryngium foetidum</i> L.)</p> <p>- Farmacológico (Nitrofurantoína 300µg)</p>	<p>Acción realizada por un elemento biológico, químico o físico sobre los microorganismos bacterianos, inhibiéndolos (bacteriostático) o eliminándolos (bactericida)<sup>40</sup>.</p>	<p>1. Nitrofurantoína 300µg.+ Aceite de <i>Eryngium foetidum</i> L. al 100%</p> <p>2. Aceite de <i>Eryngium foetidum</i> L. al 100%</p> <p>3. Nitrofurantoína 300µg</p> <p>4. DMSO</p>	<p>RG1</p> <p>RG2</p> <p>RG3</p> <p>RG4</p>	<p>Cuantitativa</p>
<p>V.D: Efecto</p> <p>Antibacteriano</p>	<p>Se determinará midiendo el tamaño del Halo inhibitorio, utilizando la técnica de Kirby Bauer<sup>41</sup>.</p>	<p>Efectivo</p> <p>No efectivo</p>	<p>≥17mm</p> <p>&lt;17mm<sup>41</sup></p>	<p>Cualitativa nominal</p>

**ANEXO 2. INSTRUMENTO**

MUESTRA	Medida de halos de Inhibición			
	Nitrofurantoína 300µg.+ Aceite de <i>Eryngium</i> <i>foetidum</i> L. al 100%	Aceite esencial de <i>Eryngium</i> <i>foetidum</i> L. al 100%	Nitrofurantoína 300µg	DSMO
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
PROMEDIO				

### ANEXO 3. CÁLCULO DE TAMAÑO DE MUESTRA

Será calculada de la siguiente manera:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Dónde:

- $Z_{\alpha/2} = 1,96$  (confianza: 95%)
- $Z_{\beta} = 0,84$  (pp: 80%)
- $\bar{X}_1 = 17\text{mm}^{35}$
- $\bar{X}_2 = 15\text{mm}^{12}$
- $\sigma^2 = 1,9^{18}$

**n = 10 repeticiones**

## ANEXO 4. CONSTANCIA DE LABORATORIO CLÍNICO



### CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha cedido *ad honorem* sus instalaciones, en donde IRENE ESTEFANY LEÓN CONTRERAS, estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Sinergia antibacteriana in vitro del aceite esencial del *Eryngium foetidum* L con nitrofurantoina en *Escherichia coli* ATCC 11229", durante los días 05 al 09 de agosto de 2020, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo

Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud de la estudiante, sólo para fines académicos, a los 08 días del mes de octubre de 2020.

  
.....  
**José Luis Callo Quevea**  
**BIOLOGO - MICROBIÓLOGO**  
**C.B.P. 0301**  
**Gerente General**

**Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo**

**Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo**

**☎ 769999 - ☎ 948649844**

**✉ [sanjoselabs@hotmail.com](mailto:sanjoselabs@hotmail.com)**

**🌐 [www.sanjoselabs.amawebs.com/](http://www.sanjoselabs.amawebs.com/)**

**ANEXO 5. CONSTANCIA DE CERTIFICACIÓN DE *Eryngium foetidum* L. POR  
HERBARIO – UPAO**



**UPAO**

Museo de Historia Natural y Cultural

**HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)**

CONSTANCIA N° 29-2019-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la  
Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

**CONSTANCIA**

Que León Contreras Irene Estefany estudiante de la Escuela Profesional de  
Medicina humana de la Universidad César Vallejo ha solicitado la  
determinación del material vegetal, el cual corresponde a la siguiente  
especie:

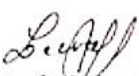
*Eryngium*

*Eryngium foetidum* L.

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: "Sinergia antibacteriana  
In vitro del aceite esencial de *Eryngium foetidum* L. con Nitrofurantoína en  
*Escherichia coli* ATCC 11229".

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada para los fines  
que correspondan.

Trujillo, 22 de octubre del 2019

  
Mg. Segundo Leiva González

Director

Museo de Historia Natural y Cultural





## ANEXO 6. EVIDENCIA FOTOGRÁFICA DE PROCESO DE REALIZACIÓN DE EXPERIMENTO

### 1.- SELECCIÓN, SECADO Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRA



### 2. PREPARACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL





### 3. MATERIALES NECESARIOS PARA EXPERIMENTO



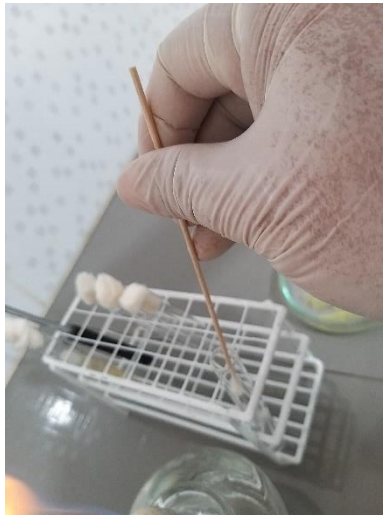


#### 4. PREPARACIÓN DE INÓCULO BACTERIANO





## 5. SEMBRADO DE INÓCULO BACTERIANO



## 6. PREPARACIÓN DE DISCOS DE SUCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA



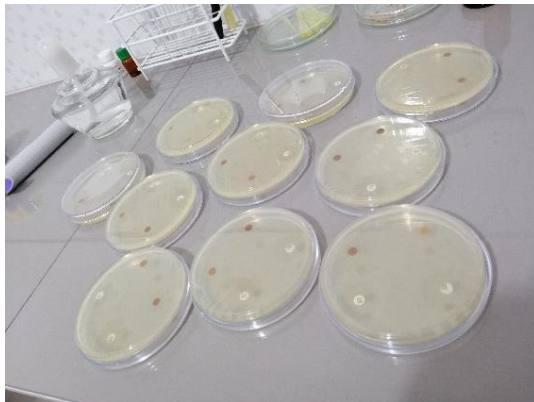
## 7. COLOCACIÓN DE DISCOS EN MEDIO DE CULTIVO



## 8. INCUBACIÓN DE LOS CULTIVOS



## 9. MEDICION DE RESULTADOS



## ANEXO 7.

## CONSTANCIA DE ASESORÍA

Yo, EVELYN DEL SOCORRO GOICOCHEA RÍOS, Docente del curso “Desarrollo del Proyecto de Investigación” de la Escuela de Medicina, dejo constancia de estar asesorando la investigación titulada: **Efecto sinérgico del aceite esencial de *Eryngium foetidum* con nitrofurantoína como antibacteriano sobre *Escherichia coli* ATCC 11229, estudio in vitro**, de la estudiante LEÓN CONTRERAS IRENE ESTEFANY.

Es pertinente mencionar que dicho proyecto fue aprobado con Resolución N° 593-2020-UCV-VA-P23-S/D de fecha 03 de junio de 2020

Se emite la presente constancia para los fines pertinentes.

Trujillo, 19 de octubre 2020



---

Dra. Evelyn Goicochea Ríos

DNI 17810413

CMP 19441 – RNE 9483

## ANEXO 8.


## CONSTANCIA DE ASESORÍA

Yo, JAIME ABELARDO POLO GAMBOA, Docente del curso “Desarrollo del Proyecto de Investigación” de la Escuela de Medicina, dejo constancia de estar asesorando la investigación titulada: **Efecto sinérgico del aceite esencial de *Eryngium foetidum* con nitrofurantoína como antibacteriano sobre *Escherichia coli* ATCC 11229, estudio in vitro** de la estudiante LEÓN CONTRERAS IRENE ESTEFANY.

Es pertinente mencionar que dicho proyecto fue aprobado con Resolución N° 593-2020-UCV-VA-P23-S/D de fecha 03 de junio de 2020

Se emite la presente constancia para los fines pertinentes.

Trujillo, 19 de octubre 2020



Jaime A. Polo Gamboa  
Mg. Blgo. 19076110  
CBP 6951

---

Mg. Blgo. Jaime Abelardo Polo Gamboa

DNI 18076110

CBP 6951